

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰

ص ص : ۱۲۹ - ۱۱۹

بررسی آثار تمرینات شنا بر سطوح *Klotho*، *FGF23*، هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی و عملکرد قلبی در رت‌های نر مبتلا به نارسایی مزمن کلیه

زهرا شسواری^۱ - رحمان سوری^{۲*} - شهرام ربانی^۳ - سیروس چوبینه^۴ - سینا رخصتی^۵
۱. دانشجوی دکتری، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۲. استاد، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۳. دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی، تهران، ایران. ۴. دانشیار، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۹، تاریخ تصویب: ۱۱/۰۳/۱۳۹۸)

چکیده

عوارض قلبی-عروقی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در بیماران مبتلا به نارسایی کلیه شناخته شده است. هدف از این تحقیق بررسی آثار تمرینات شنا بر سطوح *FGF23* و *Klotho* هایپرتروفی پاتولوژیک و عملکرد قلبی در رت‌های نر مبتلا به نارسایی مزمن کلیه است. پژوهش از نوع تجربی است و از طرح پست تست، مقایسه با گروه کنترل استفاده شد و در دانشگاه تهران و مرکز قلب تهران به انجام رسید. ۳۰ موش صحرایی نر ویستار (۷-۸ هفته) به‌طور تصادفی به سه گروه تمرین، کنترل و شم تقسیم شده و ۲۰ سر از طریق $5/6N_x$ جراحی شدند. پروتکل به‌صورت تمرینات شنا و ۳ جلسه در هفته بود که به ۳۰ دقیقه تا یک ساعت در انتهای پژوهش رسید. تجزیه و تحلیل داده‌ها بعد از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون کلموگروف اسمیرنوف، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی تفاوت بین‌گروهی استفاده شد ($P > 0.05$). تمرین شنا در میزان هایپرتروفی تغییر معنادار ایجاد نکرد، اما در عملکرد قلبی تفاوت معنادار ایجاد شد. کلوتو، فسفر سرم و پاراتیروئید نیز تغییر معنادار داشت. *FGF23* با تمرین شنا کاهش یافت، اما تغییرات معنادار نبود. وضعیت کلسیم و ویتامین D سرم بهبود یافت، اما معنادار نبود ($P > 0.05$). تمرین شنا در بیماران کلیوی می‌تواند به وضعیت بهبود مشکلات قلبی-عروقی ایجادشده بر اثر عوارض بیماری تأثیر مثبت بگذارد.

واژه‌های کلیدی

بیماری کلیوی، پروتئین کلوتو، تمرین شنا، عملکرد قلبی، هایپرتروفی قلبی، *FGF23*.

مقدمه

FGF23 با هایپرتروفی بطن چپ در افرادی که بیماری کلیوی متوسط تا شدید دارند، در ارتباط بوده است (۷). یافته‌ها و نتایج مطالعات مختلف افزایش FGF23 را با کلسیفه شدن قلب و عروق و مرگ‌ومیر در بیماران دیالیزی مرتبط می‌دانند (۱۰، ۱۱). تحقیقات نشان داده‌اند که هیپوکلسیمی محرک هورمون پاراتیروئید است و سبب هیپرپلازی غدد پاراتیروئید می‌شود. بنابراین کنترل فسفر و کلسیم موجب بهبود پرکاری پاراتیروئید و همچنین کاهش کلسیفیکاسیون عروقی در بیماران نارسایی کلیوی می‌شود (۱۲).

تحقیقات انجام‌گرفته در زمینه تأثیر ورزش بر FGF23، به این نتیجه رسیدند که تمرین موجب کاهش میزان ضخامت بطن چپ در بیماران مبتلا به پرفشار خونی می‌شود. همچنین نشان دادند که سطح سرمی FGF23 با تمرین در بیماران مبتلا به پرفشار خونی کاهش یافت، اما معنادار نبود (۱۳). مطالعات روی بیماران کلیوی تأثیر مثبت تمرین را بر میزان تصفیه گلوبولولی و کاهش فاکتورهای مربوط به مشکلات قلبی عروقی نشان دادند. اما در تعدادی از مقالات این تأثیرات معنادار اعلام نشد (۱۴). تمرینات ورزشی موجب افزایش تصفیه گلوبولولی و کاهش سیستین و کراتینین (۱۵)، کاهش التهاب و کاهش پروتئین واکنشی (CRP)، و اینترلوکین ۶ (IL-6) در افراد مبتلا به بیماری مزمن کلیه شد. همچنین در افزایش میزان میتوکندری در بیماران مبتلا به CKD متوسط تا شدید موثر است و اختلالات میتوکندریال را در بیماران مزمن کلیوی بهبود می‌بخشد. تمرینات مقاومتی از طریق افزایش هایپرتروفی تارهای نوع ۱ و ۲ و کاهش اختلالات هیستوپاتولوژیک عضلانی و همچنین افزایش قدرت به کیفیت زندگی آنان می‌تواند کمک بسزایی داشته باشد (۱۶-۱۸). این نوع تمرینات هم استرس اکسیداتیو و هم

در نارسایی کلیوی به دلیل اختلال در تنظیم مواد معدنی و التهاب مزمن و همچنین بر هم خوردن تنظیم هورمون‌های وابسته به عملکرد کلیه، بروز بیماری‌های قلبی عروقی بسیار شایع است (۳-۱). کلوتو نیز به‌عنوان پروتئین محافظت‌کننده از کلیه عمل می‌کند که اغلب در توبول‌های کلیوی بیان می‌شود و در بیماری کلیوی کاهش می‌یابد. این پروتئین به دو فرم غشایی و ترشعی وجود دارد. فرم غشایی کلوتو به‌عنوان کوفاکتور^۱ FGF23 عمل می‌کند که موجب توقف ترشح هورمون پاراتیروئید می‌شود (۴). فرم تراغشایی کلوتو به‌عنوان گیرنده FGF23 و ویتامین D در سوخت‌وساز فسفات و کلسیم نقش دارد. کلوتو می‌تواند آسیب کلیه را کاهش دهد و موجب تسریع روند بهبودی کلیه پس از ایکسمی شود و مشکلات بیماران مزمن کلیه را مانند اختلالات مواد معدنی کمتر کند (۵). klotho به عنوان گیرنده مشترک FGF23 عمل می‌کند و موجب تمایل FGF23 به گیرنده FGF-R می‌شود. چنانکه مطالعات نشان می‌دهد، این پروتئین در برابر آترواسکلروز مقاومت ایجاد می‌کند و مشکلات قلبی را در بیماران کلیوی کاهش می‌دهد (۶). همچنین تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که افزایش سطح FGF23 در بیماران نارسایی کلیه علاوه بر کلسیفیکاسیون عروق، بیماری‌های عروقی محیطی و انفارکتوس قلبی، رابطه مستقیمی با هایپرتروفی بطن چپ دارد (۷). سطوح FGF23 در مراحل اولیه اختلال عملکرد کلیه افزایش می‌یابد، تا به فیلتراسیون گلوبولولی^۲ در بیماران کمک کرده و دفع فسفات از ادرار را زیاد کند (۸). سطوح بالای فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳ با مرگ‌ومیر افرادی که در مراحل آخر بیماری نارسایی کلیوی به سر می‌برند در ارتباط است و با میزان فیلتراسیون گلوبولولی رابطه عکس دارد (۳، ۹). همچنین سطوح بالای

2 . Glomerular Filtration rate

1 . Fibroblast growth factor 23

سعی دارد تا بتواند تأثیر تمرینات شنا را بر سطوح FGF23، Klotho &، هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی و عملکرد قلبی در رت‌های نر مبتلا به نارسایی مزمن کلیه (CKD) بررسی کند.

روش پژوهش

پژوهش از نوع تجربی است و از طرح پس‌آزمون و مقایسه با گروه کنترل استفاده شد و در دانشگاه تهران و مرکز قلب تهران به انجام رسید. ۳۰ موش صحرایی نر ویستار در این پژوهش شرکت کردند. رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود و کد اخلاقی این طرح پژوهشی IR.UT.SPORT.REC.1398.018 است.

گروه کنترل: ۱۰ رت نر با دامنه وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۱۲-۱۴ هفته به‌منظور شروع فرایند پژوهش وارد شدند. پس از ۲ هفته سازگاری با محیط آزمایشگاهی ۲۰ موش صحرایی آماده جراحی کلیه (نفرکتومی) به روش ۵/۶ NX شدند و مرحله اول جراحی صورت پذیرفت. پس از جراحی اول ۲ هفته استراحت و سازگاری، جراحی دوم نیز انجام گرفت. پس از جراحی دوم پروسه پژوهش آغاز شد و تا انتهای تحقیق بدون فعالیت باقی ماندند.

گروه تمرین شنا: ۱۰ رت نر با دامنه وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۱۲-۱۴ هفته برای شروع فرایند پژوهش وارد شدند. پس از ۲ هفته سازگاری با محیط آزمایشگاهی ۲۰ موش صحرایی آماده جراحی کلیه (نفرکتومی) به روش ۵/۶ NX شدند و مرحله اول جراحی صورت پذیرفت. پس از جراحی اول ۲ هفته استراحت و آدابیتیشن جراحی دوم نیز انجام گرفت. پس از جراحی دوم موش‌ها مجدداً ۲ هفته

میکروآلبومینوری را کاهش و میزان تصفیه گلومرولی را افزایش می‌دهد. کاهش التهاب، افزایش آلبومین سرم، حفظ وزن بدن، افزایش قدرت عضلات و افزایش IGF1 از تأثیرات مثبت دیگر تمرینات مقاومتی در افراد مبتلا به نارسایی کلیه است (۱۹).

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که در گروه تمرین تمام شاخص‌های عملکردی قلب و عروق بهبود یافت و فشار خون پایدار به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد (۲۰). ایرفن ماینودین (۲۰۰۸) تأثیر تمرینات هوازی و مقاومتی را در بیماران CKD با هم مقایسه کردند و اعلام داشتند که مرگ‌ومیر ناشی از آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی در بیماران کلیوی بسیار شایع است که ممکن است به‌دلیل شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو باشد. در افراد سالم ورزش هوازی تصفیه گلومرولی را افزایش و التهاب را کاهش می‌دهد و حساسیت به انسولین را نیز بالا می‌برد. همچنین میکروآلبومینوری و لپتین‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین در برابر استرس اکسیداتیو نقش محافظت‌کنندگی دارد. ورزش مقاومتی نیز هم استرس اکسیداتیو و هم میکروآلبومینوری را کاهش و میزان تصفیه گلومرولی را افزایش می‌دهد. گزارش شده است که تمرین هوازی در افراد CKD^۱ افزایش حساسیت به انسولین، بهبود وضعیت لیپید، افزایش هموگلوبین، افزایش قدرت و کاهش فشار خون را به‌همراه داشت. ورزش مقاومتی نیز در بیماران CKD موجب کاهش التهاب، افزایش آلبومین سرم، حفظ وزن بدن، افزایش قدرت عضلات، افزایش IGF1 و افزایش GFR شد (۱۹).

در انتها با توجه تأثیرات مثبت تمرینات در بیماران نارسایی کلیه و عدم پژوهش در مورد تمرینات شنا در افراد مبتلا به نارسایی کلیه و تأثیرات آن بر FGF23, Klotho & و شاخص‌های مرتبط دیگر در بیماری CKD، این پژوهش

هفته استراحت را به‌منظور بهبود و شروع پروتکل تمرینی ۸ هفته‌ای پشت سر گذاشتند. پس از پایان پروتکل تمرین ۸ هفته‌ای موش‌ها ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی مورد تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی قرار گرفتند.

پروتکل تمرینی: ۱۰ موش نارسایی کلیه شده (با احتساب مرگومیر پس از جراحی) به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. پس از دوره آشناسازی رت‌ها برای انجام تمرین شنا تمرین در استخر جوندگان با دمای آب ۳۰-۳۲ درجه سانتی‌گراد، عمق ۴۴ سانتی‌متر، شعاع ۱۲۰ سانتی‌متر انجام گرفت. به‌منظور آشنایی با شنا به مدت یک هفته (۵ روز) و به مدت ۱۰ دقیقه در روز تمرین داده شده، و هر روز ۵ دقیقه به تمرین اضافه شد.

تمرین اصلی شامل ۸ هفته تمرین، ۳ روز در هفته و به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه بود (۲۳). تمرین با ۳۰ دقیقه در روز آغاز شد، که با افزایش هفته‌ای ۵ دقیقه در هفته هفتم به ۶۰ دقیقه رسید و زمان ۶۰ دقیقه تا هفته هشتم باقی ماند (جدول ۱).

استراحت را به‌منظور بهبود و شروع پروتکل تمرینی ۸ هفته‌ای پشت سر گذاشتند.

گروه شم: ۱۰ رت نر با دامنه وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۱۲-۱۴ هفته برای شروع فرایند پژوهش وارد شدند و تا انتهای دوره پژوهش در فضایی که گروه‌های دیگر بودند، در قفس‌ها نگهداری شدند.

موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط استاندارد 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. تغذیه موش‌ها به‌صورت پلت و براساس وزن کشی هفتگی با ترازوی استاندارد ویژه و با توجه به جیره ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز و مصرف آب به‌صورت آزاد صورت پذیرفت. پس از ۲ هفته سازگاری با محیط آزمایشگاهی ۲۰ موش صحرایی آماده جراحی کلیه (نفرکتومی) به روش ۵/۶ NX (۲۱، ۲۲) شدند. در مرحله اول جراحی ۳/۲ کلیه چپ و در مرحله دوم کلیه راست به‌طور کامل نفرکتومی شد. پس از جراحی اول ۲ هفته استراحت و سازگاری جراحی دوم نیز انجام گرفت. پس از جراحی دوم موش‌ها مجدداً ۲

جدول ۱. پروتکل تمرینی

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰
زمان							

برای سنجش هایپرتروفی و عملکرد بطن چپ تصاویر با کیفیت ۱۴ مگاهرتز و عمق ۲،۵ سانتی‌متر به‌دست آمد. عمل اکوکاردیوگرافی تا جایی که پروب دستگاه روی قفسه سینه بتواند یک m-mode با کیفیت مناسب اسکن کند، ادامه می‌یافت (۲۴). به‌منظور اندازه‌گیری سطوح سرمی کلسیم، فسفات، ویتامین D و پاراتورمون (PTH) از تست بیوشیمی (اسپکتروفتومتریک) و با استفاده از کیت زیست‌شیمی و برای اندازه‌گیری سطوح سرمی FGF23، Klotho از تست الایزا و با استفاده از کیت Zellbio

برای سنجش هایپرتروفی و عملکرد بطن چپ تصاویر با کیفیت ۱۴ مگاهرتز و عمق ۲،۵ سانتی‌متر به‌دست آمد. عمل اکوکاردیوگرافی تا جایی که پروب دستگاه روی قفسه سینه بتواند یک m-mode با کیفیت مناسب اسکن کند، ادامه می‌یافت (۲۴). به‌منظور اندازه‌گیری سطوح سرمی کلسیم، فسفات، ویتامین D و پاراتورمون (PTH) از تست بیوشیمی (اسپکتروفتومتریک) و با استفاده از کیت زیست‌شیمی و برای اندازه‌گیری سطوح سرمی FGF23، Klotho از تست الایزا و با استفاده از کیت Zellbio

انحراف استاندارد \pm میانگین گزارش و سطح معناداری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مطالعه نشان داد که FGF23 در بین گروه شنا و گروه کنترل کاهش معنادار ندارد، اما تمرین شنا بر کاهش FGF23 بسیار مؤثر واقع شد و سطح آن را بهبود بخشید. همچنین میزان &klotho در تمرین شنا نسبت به گروه کنترل به‌طور معنادار افزایش یافت (P<۰/۰۵). در میزان کلسیم در بین گروه تمرین شنا و گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. ویتامین D

فعال سرم در گروه شنا و گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت. اما تمرین شنا به میزان بسیار زیادی بر ویتامین D تأثیرگذار بود (P<۰/۰۵) و موجب افزایش ویتامین D شد و سطح آن را به گروه شم نزدیک کرد. میزان فسفر در بین گروه تمرین شنا و گروه کنترل تفاوت معناداری داشت و تمرین شنا فسفر را تحت تأثیر و آن را کاهش داد (P<۰/۰۵) و سطح آن را به گروه شم نزدیک کرد. میانگین پاراتورمون در بین گروه شنا و کنترل محاسبه شد که نشان می‌دهد پاراتورمون در گروه شنا کاهش یافته است و تمرین شنا بر کاهش پاراتورمون و هایپرپاراتیروئیدیسم مؤثر بوده و تأثیر معنادار داشته است (P<۰/۰۵). (جدول‌های ۲ و ۳).

جدول ۲. نتایج وزن فاکتورهای خونی و ایندکس وزن قلب به وزن بدن (□ ۰/۰۵)

واحد	گروه شم	گروه کنترل	گروه تمرین	
وزن	۱۰۰±۳۷۰٫۴	۶۳±۳۵۲٫۲	۳۱±۳۵۷٫۰	گرم
FGF23	۱۸٫۹۲±۲۲۰٫۳۹	۳۳٫۵۳±۶۰۹٫۲۶	۸۷٫۹۸±۵۹۹٫۲	پیکوگرم بر میلی‌لیتر
&Klotho	۰٫۶±۸٫۵۸۰	۰٫۹±۲٫۷۹	۰٫۸۷۷±۶٫۸۳۹	نانوگرم بر میلی‌لیتر
کلسیم	۰٫۱۴±۲٫۶۲	۰٫۰۸±۲٫۵۴	۰٫۱۹±۲٫۵۴	میلی‌مول بر لیتر
فسفر	۰٫۱۹±۲٫۶۰	۰٫۱۶±۲٫۹۷	۰٫۱۷±۲٫۵۶	میلی‌مول بر لیتر
پاراتورمون	۲۴٫۲۴±۱۸۷٫۷۰	۵۲٫۵۵±۲۹۲	۲۷٫۱۷±۱۷۴٫۵	پیکوگرم بر میلی‌لیتر
ویتامین □	۱۱٫۸۶±۸۳٫۷۶	۱۶٫۶۷±۴۶٫۸۷	۱۱٫۳۵±۶۰٫۵	پیکوگرم بر میلی‌لیتر
نسبت وزن قلب به وزن	۰٫۱۵±۳٫۲۱	۰٫۰۴±۳٫۵	۰٫۰۹±۳٫۳۸	---

جدول ۳. نتایج بونفرونی و ارزش P فاکتورها

ارزش P	اختلاف میانگین	گروه شم و کنترل	گروه تمرین	
۰/۰۹	-۱۰/۰۶	کنترل	شنا	FGF23
۰/۰۰	۳۷۸/۸۰۵	شم	شنا	
۰/۰۰۰	۴/۴۷ *	کنترل	شنا	& klotho
۰/۰۰۱	۱/۷۴۲ *	شم	شنا	
۰/۲۱	۰/۰۲	کنترل	شنا	کلسیم
۰/۱۳	-۰/۰۹	شم	شنا	
۰/۰۴	-۰/۴۱۶ *	کنترل	شنا	فسفر
۱/۰۰۰	۰/۰۳۹ *	شم	شنا	
۰/۰۰۰	-۱۱۷/۵۰ *	کنترل	شنا	پاراتورمون
۱/۰۰۰	-۱۳/۲۰ *	شم	شنا	
۰/۰۹	۱۳/۶۳	کنترل	شنا	ویتامین D
۰/۴۳۴	-۲۳/۲۶	شم	شنا	

پاتولوژیک شده و متعاقب آن عملکرد قلبی را بهبود بخشیده است. میزان EF به‌طور معنادار در گروه تمرین شنا افزایش یافت و این نشان‌دهنده عملکرد بهتر سیستم قلبی در این گروه است. مقادیر SV, %FS, IVSD, IVID در این گروه است. اما معنادار نبود (جدول‌های ۴ و ۵).

نتایج نشان می‌دهد که میزان ایندکس وزن قلب به وزن بدن در گروه تمرین شنا نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است (جدول ۳)، اما تفاوت معناداری وجود ندارد ($P < 0.05$) (جدول ۴) و هایپرتروفی و اختلال در عملکرد قلبی در گروه تمرین به میزان زیادی کاهش یافته که نشان می‌دهد تمرین شنا تا حدودی موجب کاهش هایپرتروفی

جدول ۴. نتایج مربوط به عملکرد قلبی و ضخامت دیواره‌ها ($P < 0.05$)

واحد	گروه شم	گروه کنترل	گروه تمرین	
سانتی‌متر	0.23 ± 0.176	0.15 ± 0.142	0.19 ± 0.128	IVSD
سانتی‌متر	0.36 ± 0.286	0.51 ± 0.214	0.41 ± 0.242	IVSS
سانتی‌متر	0.122 ± 0.572	0.61 ± 0.644	0.72 ± 0.664	IVIDD
سانتی‌متر	0.60 ± 0.278	0.54 ± 0.438	0.76 ± 0.396	IVIDS
سانتی‌متر	0.25 ± 0.025	0.24 ± 0.152	0.33 ± 0.152	IVPWD
سانتی‌متر	0.50 ± 0.300	0.11 ± 0.216	0.37 ± 0.242	IVPWS
میلی لیتر	0.48 ± 0.846	0.161 ± 0.626	0.207 ± 0.688	EDV
میلی لیتر	0.28 ± 0.072	0.73 ± 0.212	0.74 ± 0.166	ESV
%	3.897 ± 89.866	7.019 ± 65.938	5.803 ± 76.752	EF
میلی لیتر	0.40 ± 0.798	0.119 ± 0.414	0.135 ± 0.522	SV
%	6.147 ± 55.250	4.646 ± 32.080	6.657 ± 42.772	FS

جدول ۵. نتایج بونفرونی و ارزش P فاکتورهای مربوط به عملکرد قلبی

ارزش P	اختلاف میانگین	گروه شم و کنترل	گروه تمرین	
.027	10.814	کنترل	شنا	EF
.006	-13.114	شم	شنا	FS
.037	10.692	کنترل	شنا	
.012	-12.478	شم	شنا	

بحث و نتیجه‌گیری

در بیماران CKD تلقی می‌شود که در این تحقیق در موش‌های جراحی شده ایجاد شد. نتایج این تحقیق نشان داد که ۸ هفته تمرین شنا غلظت FGF23 را کاهش داد، ولی این کاهش معنادار نبود. با عدم کاهش معنادار FGF23، اثر تمرین در تنظیمات سطح کلسیم نیز در این تحقیق رد شد و ناپایداری کلسیم در خون که پیش‌بینی می‌شد با اثر تمرین کاهش پیدا کند، تغییر معناداری نداشت و این عدم کاهش موجب شد که نتواند اثر منفی در تحریک سلول‌های استخوانی را که موجب تولید FGF23

چنانکه از نتایج این تحقیق نشان داد، روش جراحی Nephrectomy 5/6Nx پس از ۱۰ هفته در رت‌های نر توانست فاکتورهای Klotho, FGF23, ویتامین D و پاراتورمون را هم‌جهت با تغییرات بیوشیمیایی بیماران CKD تغییر دهد که این خود همراستا با نتایج تحقیقات شارون و همکاران (۲۰۰۹) و هیساشی و همکاران (۲۰۱۰) است (۲۵، ۲۶). همچنین هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی و اختلال در عملکرد نیز که از پیامدهای بعدی این تغییرات

فسفر سرم متعاقب تمرین ورزشی FGF23 در سطح معنادار کاهش نیافت. اما با کاهش فسفر سرم، تشکیل فسفوکلسیم و رسوب کمتر در بافت عروق و در نهایت کاهش فشار و افزایش عملکرد قلبی اتفاق افتاد. تنظیم و کاهش مقدار اندک FGF23 و کاهش معنادار فسفر سرم که به وسیله تمرین شنا اتفاق افتاد، ممکن است به این دلیل باشد که تمرین شنا به علت مقاومتی که در حرکت ایجاد می‌کند، می‌تواند بر چگالی استخوان نیز تأثیرگذار باشد. در همین زمینه تحقیقات نشان داده است که چگالی استخوان ران و تغییرات آن رابطه مستقیم با FGF23 دارد، که این تغییرات به طور مستقیم بر غده پاراتیروئید تأثیر گذاشته و سبب کاهش سنتز و ترشح هورمون پاراتیروئید شده است. اطلاعات موجود اثبات می‌کند FGF23 نقش تنظیمی بر عملکرد پاراتیروئید در فیزیولوژی نرمال دارد که در تحقیق حاضر نیز داده‌ها این مسئله را تأیید می‌کند. در بیماران دچار نارسایی مزمن کلیه، سطح در گردش FGF23 به طور پیش‌رونده‌ای افزایش می‌یابد تا احتباس پایدار فسفر را جبران کند، اما همین مسئله سبب کاهش تولید کلیوی فرم فعال ویتامین D می‌شود و در نتیجه این سیگنال هم افزایش ترشح هورمون پاراتیروئید را به همراه خواهد داشت (۱۲، ۲۹). تمرین شنا توانسته سطح فسفر سرم را بهبود بخشد، بنابراین کنترل فسفر موجب کاهش اندک FGF23 شد و این تغییرات موجب افزایش سطح ویتامین D فعال نیز شد. این تغییرات، پرکاری پاراتیروئید را به طور معنادار کاهش داد (۱۲). ویتامین D با تمرین شنا افزایش یافت، اما به سطح معناداری نرسید، اما همین تغییرات موجب کاهش سطح پاراتورمون شد، زیرا فرم فعال ویتامین D با سطح پاراتورمون رابطه عکس دارد، در نتیجه موجب تغییر در هورمون پاراتیروئید شد.

در تحقیق حاضر مشخص شد که ۸ هفته تمرینات شنا تأثیر معناداری در افزایش سطح Klotho داشت. کلوئو

می‌شد، خنثی کند. اما افزایش جزئی سطح کلسیم با تمرینات شنا با تغییراتی که در فاکتورهای دیگر ایجاد کرد، در نهایت در کاهش LVH و عملکرد قلبی مؤثر واقع شد (۲۶). این نتیجه با نتایج فخرپور (۲۰۱۶) که به تمرینات بلندمدت بر روی بیماران کلیوی پرداخته است، همراستا است (۲۷). کشاورز (۱۳۹۶) نیز اثر تمرینات درازمدت را روی زنان سالمند مبتلا به فشار خون بررسی کرد و علی‌رغم عدم تشابه گروه هدف در این تحقیقات در خصوص بیماران کلیوی FGF23 در این تحقیقات نیز تغییر نکرد (۱۳). لی و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثر فعالیت ورزشی بر روی سطح سرمی FGF23 پرداختند و در نهایت شاهد افزایش معنادار FGF23 در فعالیت ورزشی موش‌ها بودند (۲۸). دلیل ناهمسو بودن این تحقیقات با نتایج تحقیقات دیگر می‌تواند این باشد که اولاً نوع تمرین در این تحقیق یک پروتکل کوتاه‌مدت است و افزایش FGF23 پاسخ کوتاه‌مدت به فعالیت ورزشی است، چراکه FGF23 یک فاکتور رشدی محسوب می‌شود و ثانیاً آزمودنی‌های این تحقیق موش‌های سالم با سطح غلظت نرمال FGF23 بودند، چراکه در تحقیق حاضر آزمودنی‌ها بیمار CKD بودند و غلظت FGF23 در بیماران CKD تا ۶ برابر می‌تواند افزایش پیدا کند (۲۶). تمرین شنا موجب افزایش فیلتراسیون گلومرولی و متعاقب آن تأثیر مثبت بر سطح فسفر سرم شد و آن را به طور معناداری کاهش داد که بر ترشح FGF23 تأثیرگذار بوده است، اما در حد معناداری نتوانست آن را کاهش دهد. سطح فسفر و FGF23 تأثیر دوسویه بر هم دارند. FGF23 موجب تنظیم مینرالیزاسیون استخوان از طریق تنظیم فسفات در کلیه می‌شود (۲۹)، در نتیجه با تمرین ورزشی و افزایش فیلتراسیون گلومرولی در کلیه کاهش فسفر را به دنبال خواهد داشت که در کاهش FGF23 بی‌شک تأثیرگذار خواهد بود و ممکن است عوامل دیگری در کاهش FGF23 دخالت داشته‌اند که با کاهش

پوشاننده کانال‌های یونی Ca^{2+} و K نقش مؤثری ایفا می‌کند (۳۴). در واقع تحریکات کانال‌های Ca^{2+} TPRV5، بازجذب Ca^{2+} را به وسیله افزایش klotho بالا می‌برد (۳۵). در ضمن klotho اثر محافظتی خود از قلب را از طریق تنظیم کانال‌های TRPC6 نشان داده است. در واقع افزایش klotho موجب مهار کانال‌های TRPC6 می‌شود و این از ورود کلسیم بالا به سلول ممانعت کرده و از این طریق، از کاهش عملکرد بطن‌ها و اختلال در عملکرد قلب جلوگیری می‌کند (۳۶).

نتیجه‌گیری

در نهایت با توجه به نتایج این تحقیق و با در نظر گرفتن مطالعات انجام‌گرفته در این خصوص می‌توان گفت که اختلالات عملکرد قلبی نتیجه‌انتهایی روند بیماری کلیوی است که تحت دو عامل اصلی افزایش FGF23 و کاهش klotho ایجاد می‌شود. اگرچه مطالعاتی در جهت تأثیر تمرین ورزشی بر میزان تغییرات FGF23، klotho، هایپرتروفی و عملکرد قلبی در گروه‌های مختلف انجام گرفته است، با این حال تحقیق حاضر در زمره اولین تحقیقات صورت‌گرفته در راستای بررسی تأثیر تمرین بر میزان اختلالات سیستم قلبی عروقی در بیماران کلیوی که می‌تواند با منشأ ۲ فاکتور مهم FGF23 و klotho صورت پذیرد، باشد. تمرینات ۸ هفته‌ای شنا موجب کاهش اختلال عملکرد قلبی در رت‌های بیمار کلیوی شد، ولی این تغییر بیشتر تحت عامل افزایش klotho بود، چراکه FGF23 نتوانست تحت این پروتکل تمرینی کاهش معنادار داشته باشد.

به‌عنوان پروتئین محافظت‌کننده از کلیه عمل می‌کند که اغلب در توپول‌های کلیوی بیان می‌شود که تمرین شنا با توجه به تحقیقات گذشته با تأثیر مثبت بر عملکرد توپول‌ها توانسته است تولید و ترشح کلوتو را افزایش دهد. فرم تراغشایی کلوتو به‌عنوان گیرنده FGF23 و ویتامین D در متابولیسم فسفات و کلسیم نقش دارد که موجب توقف ترشح هورمون پاراتیروئید نیز می‌شود (۴). تأثیر کلوتو و FGF23، دوسویه است و افزایش FGF23 در روند CKD می‌تواند به‌دلیل سطوح پایین klotho باشد. تغییر در میزان آرتریواسکلروتیک ناشی از کاهش klotho عاملی است که در پاسخ به بالا رفتن FGF23 بوده و در نهایت به هایپرتروفی بطن چپ منجر می‌شود (۳۰). با تمرین شنا و کاهش FGF23 در سطح (۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D افزایش ایجاد شد که تحریک‌کننده بیان Klotho است، پس به دنبال آن افزایش Klotho را داشتیم (۳۱).

در واقع در تحقیقات انجام‌گرفته در خصوص تأثیر Klotho در پیشگیری و درمان CKD بحث و بررسی لازم صورت پذیرفته و نیز نشان داده شده است که افزایش سطح Klotho قلب را از ریمدلینگ شدن پس از آسیب کلیه محافظت می‌کند (۳۲). تمرین شنا توانست بر Klotho & تأثیر معنادار داشته باشد. چنانکه در مطالعات نشان داده شده است، klotho در برابر آترواسکلروز و مشکلات قلبی ناشی از آن مثل اختلال عملکرد و هایپرتروفی قلبی مقاومت ایجاد می‌کند و این علائم را در بیماران کلیوی کاهش می‌دهد؛ این روند را با تأثیر بر سطح کلسیم و فسفر، سطح ویتامین D فعال، سطح FGF23، ROS و تولید نیتریک اکساید (NO) انجام می‌دهد (۱۴). کاهش سطح klotho می‌تواند موجب اختلال عملکرد گره سینوسی دهلیزی و تغییر در میزان آرتریواسکلروتیک شود که این خود عامل اصلی در ایجاد اختلال عملکرد قلبی است (۳۳). تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که klotho در تنظیم فراوانی سلول‌های

1. Levey, A.S. and J. Coresh, *Chronic kidney disease*. The lancet, 2012. 379(9811), p-165-180.
2. Cozzolino, M., et al., *The cardiovascular burden in end-stage renal disease*, in *Expanded Hemodialysis*. 2017, Karger Publishers. p, 44-57.
3. Naranjo M, Lerma EV, Rangaswami J. Cardio-Renal Syndrome: A double edged sword. *Disease-a-month: DM*. 2017 Apr;63(4):92-100.
4. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, Sirkis R, Naveh-Many T, Silver J. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *The Journal of clinical investigation*. 2007 Dec 3;117(12):4003-8.
5. Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I, Shimada T, Murakami J, Aono Y, Hasegawa H, Yamashita T, Nakatani K, Saito Y, Okamoto N. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010 Jul 30;398(3):513-8.
6. Razzaque MS. The FGF23–Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2009 Nov;5(11):611-9.
7. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Collerone G, Jüppner H, Wolf M. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005 Jul 1;16(7):2205-15.
8. Palazzuoli A, Masson S, Ronco C, Maisel A. Clinical relevance of biomarkers in heart failure and cardiorenal syndrome: the role of natriuretic peptides and troponin. *Heart failure reviews*. 2014 Mar;19(2):267-84.
9. Metzinger-Le Meuth V, Burtey S, Maitrias P, Massy ZA, Metzinger L. microRNAs in the pathophysiology of CKD-MBD: Biomarkers and innovative drugs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2017 Jan 1;1863(1):337-45.
10. Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, Lenglet A, Lemke HD, Choukroun G, Druke TB, Massy ZA. FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. *Osteoporosis International*. 2012 Jul;23(7):2017-25.
11. Paoli S, Mitsnefes MM. Coronary artery calcification and cardiovascular disease in children with chronic kidney disease. *Current opinion in pediatrics*. 2014 Apr;26(2):193.
12. Lavi-Moshayoff V, Wasserman G, Meir T, Silver J, Naveh-Many T. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2010 Oct;299(4):F882-9.
13. Keshavarzi ZA, Daryanoosh FA, Kooshki Jahromi M, Mohammadi ME. The effect of 12 weeks of aerobic exercise on plasma levels of fibroblast growth factor 23, Angiotensin

- converting enzyme and left ventricular hypertrophy in hypertensive elderly women. *SSU_Journals*. 2017 Jun 15;25(3):222-9.
14. Hu MC, Shi M, Gillings N, Flores B, Takahashi M, Kuro-o M, Moe OW. Recombinant α -Klotho may be prophylactic and therapeutic for acute to chronic kidney disease progression and uremic cardiomyopathy. *Kidney international*. 2017 May 1;91(5):1104-14.
 15. Greenwood SA, Koufaki P, Mercer TH, MacLaughlin HL, Rush R, Lindup H, O'Connor E, Jones C, Hendry BM, Macdougall IC, Cairns HS. Effect of exercise training on estimated GFR, vascular health, and cardiorespiratory fitness in patients with CKD: a pilot randomized controlled trial. *American Journal of Kidney Diseases*. 2015 Mar 1;65(3):425-34.
 16. Castaneda C, Gordon PL, Parker RC, Uhlin KL, Roubenoff R, Levey AS. Resistance training to reduce the malnutrition-inflammation complex syndrome of chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases*. 2004 Apr 1;43(4):607-16.
 17. Balakrishnan VS, Rao M, Menon V, Gordon PL, Pilichowska M, Castaneda F, Castaneda-Sceppa C. Resistance training increases muscle mitochondrial biogenesis in patients with chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2010 Jun 1;5(6):996-1002.
 18. Heiwe S, Clyne N, Tollbäck A, Borg K. Effects of regular resistance training on muscle histopathology and morphometry in elderly patients with chronic kidney disease. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 2005 Nov 1;84(11):865-74.
 19. Moinuddin I, Leehey DJ. A comparison of aerobic exercise and resistance training in patients with and without chronic kidney disease. *Advances in chronic kidney disease*. 2008 Jan 1;15(1):83-96.
 20. Pechter Ü, Ots M, Mesikepp S, Zilmer K, Kullissaar T, Vihalemm T, Zilmer M, Maaros J. Beneficial effects of water-based exercise in patients with chronic kidney disease. *International Journal of Rehabilitation Research*. 2003 Jun 1;26(2):153-6.
 21. Wei J, Zhang J, Wang L, Cha BJ, Jiang S, Liu R. A new low-nephron CKD model with hypertension, progressive decline of renal function, and enhanced inflammation in C57BL/6 mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2018 May 1;314(5):F1008-19.
 22. Liu Y, Li J, Yu J, Wang Y, Lu J, Shang EX, Zhu Z, Guo J, Duan J. Disorder of gut amino acids metabolism during CKD progression is related with gut microbiota dysbiosis and metagenome change. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2018 Feb 5;149:425-35.
 23. Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. Swimming exercise prevents fibrogenesis in chronic kidney disease by inhibiting the myofibroblast transdifferentiation. *PLoS One*. 2012 Jun 27;7(6):e37388.
 24. Sahn DJ, DeMaria AN, Kisslo JO, Weyman AF. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *circulation*. 1978 Dec;58(6):1072-83.

25. Moe SM, Chen NX, Seifert MF, Sinderson RM, Duan D, Chen X, Liang Y, Radcliff JS, White KE, Gattone II VH. A rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder. *Kidney international*. 2009 Jan 2;75(2):176-84.
26. Moe SM, Chen NX, Seifert MF, Sinderson RM, Duan D, Chen X, Liang Y, Radcliff JS, White KE, Gattone II VH. A rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder. *Kidney international*. 2009 Jan 2;75(2):176-84.
27. Fakhrpour R, Ebrahim K, Ahmadizad S, Khoroshahi HT. Effects of combined training on FGF23 and some vascular calcification risk factors in hemodialysis patients. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. 2016 Aug 7;38(3):84-91.
28. Li DJ, Fu H, Zhao T, Ni M, Shen FM. Exercise-stimulated FGF23 promotes exercise performance via controlling the excess reactive oxygen species production and enhancing mitochondrial function in skeletal muscle. *Metabolism*. 2016 May 1;65(5):747-56.
29. Rossaint J, Oehmichen J, Van Aken H, Reuter S, Pavenstädt HJ, Meersch M, Unruh M, Zarbock A. FGF23 signaling impairs neutrophil recruitment and host defense during CKD. *The Journal of clinical investigation*. 2016 Mar 1;126(3):962-74.
30. Pavik I, Jaeger P, Ebner L, Wagner CA, Petzold K, Spichtig D, Poster D, Wüthrich RP, Russmann S, Serra AL. Secreted Klotho and FGF23 in chronic kidney disease Stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013 Feb 1;28(2):352-9.
31. Yoshida T, Fujimori T, Nabeshima YI. Mediation of unusually high concentrations of 1, 25-dihydroxyvitamin D in homozygous klotho mutant mice by increased expression of renal 1α -hydroxylase gene. *Endocrinology*. 2002 Feb 1;143(2):683-9.
32. Maltese G, Karalliedde J. The putative role of the antiageing protein klotho in cardiovascular and renal disease. *International journal of hypertension*. 2012 Jan 1;2012.
33. Takeshita K, Fujimori T, Kurotaki Y, Honjo H, Tsujikawa H, Yasui K, Lee JK, Kamiya K, Kitaichi K, Yamamoto K, Ito M. Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of klotho gene expression. *Circulation*. 2004 Apr 13;109(14):1776-82.
34. Huang CL. Regulation of ion channels by secreted Klotho: mechanisms and implications. *Kidney international*. 2010 May 2;77(10):855-60.
35. Alexander RT, Woudenberg-Vrenken TE, Buurman J, Dijkman H, van der Eerden BC, van Leeuwen JP, Bindels RJ, Hoenderop JG. Klotho prevents renal calcium loss. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2009 Nov 1;20(11):2371-9.
36. Ramez M, Rajabi H, Ramezani F, Naderi N, Darbandi-Azar A, Nasirinezhad F. The greater effect of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury through Klotho levels and attenuate of myocardial TRPC6 expression. *BMC cardiovascular disorders*. 2019 Dec;19(1):1-0.

Effects of swimming exercises on FGF23, & Klotho levels, cardiac pathological hypertrophy and cardiac function of male rats CKD

Zahra Shahsavari¹- Rahman Souri^{*2}- Shahram Rabbani³ - Sirous Chobineh⁴- Sina Rokhsati⁵

1,5.Ph.D. Student, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 2 .Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3. Associate Professor of Medical Sciences, Tehran, Iran 4. Associate Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received:2019/02/18;Accepted:2019/06/08)

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of swimming training on pathological cardiac hypertrophy, cardiac function, FGF23 and Klotho of male rats CKD. In this study, 30 male Wistar rats (7-8 week) were randomly divided into three groups: training, control, and sham. The renal disease model was induced in rats by a 5/6 nephrectomy (5/6-NX) procedure. The exercise protocol was administered incrementally, 2 sessions per week for eight weeks. Activities included warm-up and resistance training. Resistance training was a ladder exercise with 3 sets and 6 repetitions with percentages of body weight. One-way ANOVA and Bonferroni statistical methods were used for data analysis. Significance level was considered $P < 0.05$. The results showed that swimming exercise reduced FGF23 and pathological cardiac hypertrophy but the results were not significant. Plasma levels of Klotho and cardiac function were significantly increased in the training group compared with the control group. Exercise training significantly decreased serum phosphorus and serum parathormon in the Train group. Serum calcium and vitamin D status were improved but were not significant. Overall, the results showed that swimming exercise can have a significant effect on cardiac function and cardiovascular disease indices in chronic Kidney disease.

Keywords

Chronic KidneyDisease, Cardiac function, FGF23, Klotho protein, cardiac hypertrophy, Swimming exercise.

* Correspondin Author: Email:Soori@ut.ac.ir , Tel:02188351741